

基于网络药理学、转录组学和动物实验探讨葛根素对糖尿病肾脏损伤的影响

郑彩云¹，蔡雅慧²，王凤艳²，戴亨纷^{3*}

(1. 福建医科大学附属福清市医院临床药学室, 福建福州 350300; 2. 福建医科大学附属福清市医院药剂科, 福建福州 350300; 3. 福建医科大学附属福州市第一总医院, 福建福州 350009)

摘要: 目的 探讨葛根素对糖尿病肾脏损伤斑马鱼的影响。方法 通过TCMSP数据库获得葛根改善糖尿病肾脏损伤模型的潜在核心靶点和信号通路, 预测其作用机制。建立斑马鱼糖尿病肾脏损伤模型, 检测身体水肿发生率、肾小球滤过、眼部血管面积、血糖、体内Ox-LDL及炎性反应。基于转录组学及网络药理学预测葛根素改善糖尿病肾病的作用机制, 并通过RT-qPCR法进行验证。结果 葛根素作用于糖尿病肾病的主要信号通路有脂质与动脉粥样硬化、晚期糖基化终末产物-受体、环磷酸腺苷、胰高血糖素等, 相关基因主要为`camk2g1`、`phka1a`、`crebbpb`、`cga`、`pde3a`、`il1b`、`mmp9`、`egr1`。与对照组比较, 葛根素能改善糖尿病肾脏损伤, 降低身体水肿发生率, 促进肾小球滤过, 减少眼部血管面积, 辅助降血糖, 降低Ox-LDL水平, 抑制炎症反应($P<0.05$), 降低`egr1`、`phka1a`、`camk2g1`、`crebbpb`、`mmp9`、`il1b` mRNA表达($P<0.05$), 升高`pde3a` mRNA表达($P<0.05$)。结论 葛根素能通过调节晚期糖基化终末产物-受体信号通路来改善糖尿病肾脏损伤相关表型。

关键词: 葛根素; 糖尿病肾脏损伤; 网络药理学; 转录组学; 动物实验

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)01-0281-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.041

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病中常见的微血管并发症, 高达40%的糖尿病患者会发生, 已成为终末期肾病的主要病因^[1-2], 传统治疗手段虽然在一定程度上能控制血糖等相关指标以延缓疾病进程, 但存在局限性, 难以满足临床高效、安全的需求^[3]。葛根作为药食同源的传统中药, 具有解肌退热、生津止渴、透疹等功效^[4], 20世纪90年代开始用于防治糖尿病及其急慢性并发症, 并取得一定效果^[5-6]。葛根富含多种活性成分, 如葛根素、大豆昔元等, 具有抗氧化、抗炎、调节糖脂代谢、改善微循环等活性。鉴于糖尿病肾病的发病机制与氧化应激、糖脂代谢紊乱、微血管病变密切相关, 葛根素在治疗本病方面具有潜在的应用价值, 可为相关临床治疗开辟新的有效途径, 并丰富相关综合策略^[7-8]。

本研究基于糖尿病肾脏损伤斑马鱼模型来探讨葛根素对血糖、眼部血管及肾脏功能的影响和潜在机制, 通过网络药理学挖掘相关作用靶点及信号通路, 再结合转录组学和RT-qPCR法来探索葛根素

作用机制, 以期为其进一步研究提供参考。

1 材料

1.1 动物 野生型AB品系斑马鱼、3 dpf转基因血管绿色荧光斑马鱼、3 dpf转基因巨噬细胞绿色荧光斑马鱼、3 dpf转基因中性粒细胞绿色荧光斑马鱼均由杭州环特生物科技股份有限公司提供, 饲养于28℃养鱼用水中(每1 L反渗透水中加入200 mg速溶海盐。电导率450~550 $\mu\text{S}/\text{cm}$, pH 6.5~8.5, 硬度50~100 mg/L CaCO_3), 实验动物使用许可证号SYXK(浙)2022-0004, 饲养管理符合国际AAALAC认证(编号001458)要求。动物实验经福建医科大学附属福清市医院批准(伦理审查号IACUC-2023-7402-01)。

1.2 试剂与药物 葛根素(上海源叶生物科技股份有限公司, 货号B20446)。磷酸西格列汀片(意大利Merck Sharp& Dohme Italia SPA公司, 批号H008754)。链脲佐菌素(streptozocin, STZ)、甲基纤维素、柠檬酸钠(批号D23141099、C2004046、C1820161, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 货号A10101)。

收稿日期: 2025-08-30

基金项目: 福州市卫生健康科技计划项目(2022-S-wq1, 2022-S-wr2); 福建医科大学附属福州市第一总医院院级科研项目(2022-YJ-02)

作者简介: 郑彩云(1992—), 女, 硕士, 主管药师, 从事临床药理研究。E-mail: saiun1992@163.com

*通信作者: 戴亨纷(1988—), 男, 博士在读, 主管药师, 从事糖尿病肾病基础、临床研究。E-mail: hengfendai2011@163.com

有限公司); 鸡蛋蛋黄粉(批号 20230203, 浙江艾格生物科技股份有限公司); 无水葡萄糖(批号 C15778026, 上海麦克林生化科技有限公司); 四甲基罗丹明(批号 D1816, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO, 批号 BCCD8942, 美国 Sigma 公司); 氧化低密度脂蛋白试剂盒(批号 20240108, 南京建成生物工程研究院有限公司); ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(批号 027E2201CD, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司); FastKing cDNA 第一链合成试剂盒(去基因组)[批号 X1213, 天根生化科技(北京)有限公司]; Universal RNA Extraction TL Kit C(货号 TL2204001643C, 佛山奥维生物科技有限公司)。

1.3 仪器 SZX7 型解剖显微镜(日本 Olympus 公司); AZ100 型电动聚焦连续变倍荧光显微镜(日本 Nikon 公司); CP214 型精密电子天平(美国 Ohaus 公司); AXIOZoom. V16 型荧光显微镜(德国 Zeiss 公司); IM300 型显微注射仪(美国 Smith-Root 公司); PC-10 型拉针仪(日本 Narishige 公司); ACCU-CHEK Performa 型血糖仪[罗氏诊断产品(上海)有限公司]; SPARK 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司); Auto-Pure32A 型全自动核酸提取仪(杭州奥盛仪器有限公司); T100 型普通 PCR 扩增仪、CFX Connect 型荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司); Heraeus Fresco17 型高速冷冻离心机、Nanodrop2000 型紫外-可见光分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学

2.1.1 葛根活性成分、糖尿病肾病交集靶点收集 以“葛根”为关键词, 在中药系统药理学数据库与分析平台 (traditional chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP) 进行检索, 收集活性成分。再以口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 20\%$ 、药物相似度 (drug likeness, DL) ≥ 0.12 为纳入标准, 采用 Venny 2.1 软件绘制两者交集的韦恩图。

2.1.2 GO 功能分析、KEGG 通路富集分析 对葛根治疗糖尿病肾病潜在靶点进行基因本体论 (gene ontology, GO) 功能、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 信号通路富集分析, 将信号通路的 *P* 值按从小到大排序后选取前 20 位者, 采用微生信在线工具作

可视化输出。

2.1.3 PPI 网络、“成分-靶点-通路”互作网络构建 将药物-疾病交集靶点导入 STRING 数据库构建蛋白-蛋白互作 (protein protein interaction, PPI) 网络。采用 Cytoscape 3.8.2 软件中的 cytoHubba 插件 (MCC 功能) 对 PPI 网络进行拓扑分析, 以蛋白-蛋白相互作用的相关性强度进行排序, 筛选总网络中相关性排名前 20 位的核心靶点。选取从 KEGG 富集中获得的信号通路, 采用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“有效成分-靶点-信号通路”相互作用网络, 结合拓扑属性分析, 以节点度值大小筛选核心成分。

2.2 动物实验

2.2.1 模型构建 随机选取受精后 3 d (3 dpf) 野生型 AB 品系斑马鱼至烧杯中, 每个烧杯 30 尾, 容量为 25 mL, 除正常组外, 其余各组给予高糖高脂饲料联合卵黄囊注射 STZ 建立斑马鱼糖尿病肾脏损伤模型, 剂量见表 1。处理 2 d 后, 确定 STZ 对正常斑马鱼可达到的最大效应剂量为 500 ng/尾。

表 1 STZ 糖尿病肾脏损伤模型构建剂量筛选结果 (*n*=30)

| 组别 | 剂量/(ng·尾 ⁻¹) | 死亡数/尾 | 死亡率/% | 表型 |
|-------|--------------------------|-------|-------|----------|
| 正常组 | — | 0 | 0 | 未见明显异常 |
| STZ 组 | 400 | 0 | 0 | 与正常组状态相似 |
| STZ 组 | 500 | 0 | 0 | 与正常组状态相似 |
| STZ 组 | 600 | 9 | 30 | — |
| STZ 组 | 700 | 23 | 77 | — |
| STZ 组 | 800 | 26 | 87 | — |

2.2.2 葛根素最大浓度测定和斑马鱼表型检测 随机选取 3 dpf 野生型 AB 品系斑马鱼, 按“2.2.1”项下方法进行分组与造模, 每组 30 尾, 注射葛根素, 质量浓度分别为 15.6、31.2、62.5、125、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。处理 2 d 后, 确定葛根素对 DN 斑马鱼的最大耐受浓度 (maximum tolerated concentration, MTC), 同时设置正常组、模型组、磷酸西格列汀片组 (350 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 在解剖显微镜下观察斑马鱼身体水肿发生数, 计算其发生率。再静脉注射四甲基罗丹明进行荧光标记, 置于培养箱中孵育, 斑马鱼培养用水清洗 3 次, 在荧光显微镜下观察并拍照, 分析全身荧光强度, 观察肾小球滤过效果。然后, 随机选取 3 dpf 转基因血管绿色荧光斑马鱼, 每组 10 尾, 在荧光显微镜下观察并拍照, 分析眼部血管面积。最后, 随机选取 3 dpf 转基因巨噬细胞、中性粒细胞绿色荧光斑马鱼, 每组 10 尾, 在荧光显微镜下拍照, 采用 NIS-Elements

3.20 高级图像处理软件分析并采集数据, 分析巨噬细胞、中性粒细胞荧光强度。

2.2.3 生化指标 随机选取4 dpf 野生型AB品系斑马鱼, 卵黄囊注射STZ, 处理至5 dpf, 分别给予3.91、7.81、15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 葛根素, 同时设置正常组、模型组、磷酸西格列汀片组, 处理2 d, 采用血糖仪采集数据, 分析葡萄糖水平。再按“2.2.2”项下方法进行分组与造模, 按照试剂盒说明书收集样本, 采用多功能酶标仪检测氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)水平。

2.2.4 转录组测序 按“2.2.2”项下方法进行分组与造模, 收集正常组、模型组、葛根素15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组斑马鱼至25 mL烧杯中, 采用Universal RNA Extraction TL Kit C 提取总RNA, 紫外-可见光分光光度计检测浓度和纯度。再将 $P<0.05$ 、Fold Change=1.5的差异基因进行KEGG、GO富集分析, 根据网络药理学结合转录组结果, 基因集富集分析对模型组和葛根素组之间的差异通路进行验证。

2.2.5 RT-qPCR法检测 $egr1$ 、 $phka1a$ 、 $camk2g1$ 、 $crebbpb$ 、 $mmp9$ 、 $il-1\beta$ 、 $pde3a$ 、 cga mRNA表达 采用TRIzol试剂提取总RNA, 按cDNA第一链合成试剂盒说明书进行逆转录反应, qPCR试剂盒进行扩增反应, 引物序列见表2, 反应条件为95 °C预变性2 min, 95 °C变性5 s, 60 °C退火延伸30 s, 共循环39次, 在95 °C 5 s、65 °C 5 s、95 °C 50 s下绘制熔解曲线。以 β -actin为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法进行定量分析。

表2 引物序列

| 基因 | 方向 | 引物序列(5'→3') |
|----------------|----|--------------------------|
| β -actin | 正向 | TCGAGCAGGAGATGGGAACC |
| | 反向 | CTCGTGGATACCGCAAGATTC |
| $egr1$ | 正向 | GATCACCTTGCTGGAGATAAG |
| | 反向 | AGTTGGTGGCGGGTTCAAG |
| $phka1a$ | 正向 | TTCACCACATTCTGAGCGGA |
| | 反向 | ATCTGAGCTTCCAGCATCT |
| $camk2g1$ | 正向 | AAGAAAGCAACACGGCCTCT |
| | 反向 | CCTGTTACCGAGTGGAAAGGA |
| $crebbpb$ | 正向 | AGGGTCAGGTTAGCGTTCTG |
| | 反向 | CAGACTGTCCAACAGCAGCA |
| $mmp9$ | 正向 | TGTCCCAGTGGAGCTCTCTTC |
| | 反向 | GTTTCCATCATTGGGGCC |
| $il-1\beta$ | 正向 | GAACAGAATGAAGCACATCAAACC |
| | 反向 | ACGGCACTGAATCCACAC |
| $pde3a$ | 正向 | CGCCCGAGGATCTCAGTCTT |
| | 反向 | CTGGGTGTTACGCTGAGTTACT |
| cga | 正向 | GGACAAGATACTGCTGAACCAAG |
| | 反向 | GTGGGATATTCTGGCAACCATT |

2.3 统计学分析 通过SPSS 26.0软件进行处理, 计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用LSD检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学

3.1.1 葛根-活性成分-潜在作用靶点 葛根有效成分与DN的共同交集靶点有227个, 见图1A。绘制交集靶点PPI网络, 删掉3个游离蛋白节点, 见图1B, 包含224个节点、6 058条边, 平均节点度为54.1, PPI富集 P 值 $<1.0\times10^{-16}$ 。根据蛋白节点度由高到低的排序, 前20位靶点分别为IL6、TNF、ALB、INS、AKT1、IL1 β 、TP53、STAT3、SRC、EGFR、PPARG、BCL2、CASP3、JUN、CTNNB1、NFKB1、MYC、MMP9、ESR1、HIF1 α , 见图1C。对PPI网络进行拓扑性质分析, 筛选出总网络中相关性最强的前10位靶点为STAT3、IL6、BCL2、TNF、ALB、AKT1、PTGS2、CASP3、HIF1A、MMP9, 见图1D。

3.1.2 靶点生物学功能 KEGG富集分析得到183条相关信号通路, P 值按小到大排序前20位见图1E。由此可知, 葛根作用DN的主要信号通路包括癌症、脂质与动脉粥样硬化、糖尿病并发症RAGE、PI3K-Akt、流体剪切力与动脉粥样硬化、FoxO、胰岛素抵抗、HIF-1、内分泌抵抗等, 见图1F。

3.1.3 “有效成分-靶点-信号通路”互作网络分析 见图1G, 可知共有446个节点、1 085条边, 其中葛根有效成分7个节点, 信号通路11个节点, 葛根和DN交集基因靶点226个节点。葛根有效成分平均度值为98.57, 有5种高于平均值, 分别为7, 8, 4'-三羟基异黄酮(GG7)、芒柄花素(GG1)、 β -谷甾醇(GG3)、谷甾醇葡萄糖苷(GG2)和葛根素(GG6); 靶点的平均度值为3.47, 有83个靶点的度值高于平均度值, 其中靶点度值前10位的靶点为MAPK14、PIK3CA、AKT1、IL6、MAPK1、MAPK3、MAPK8、RELA、BCL2、TNF; 信号通路平均度值为29.72, 有3条高于平均值, 分别为脂质与动脉粥样硬化、PI3K-Akt、RAGE信号通路。

3.2 动物实验

3.2.1 葛根素最大检测浓度 当葛根素质量浓度 $>31.2 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 斑马鱼状态较模型组严重, 故将其MTC设为15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 见表3。

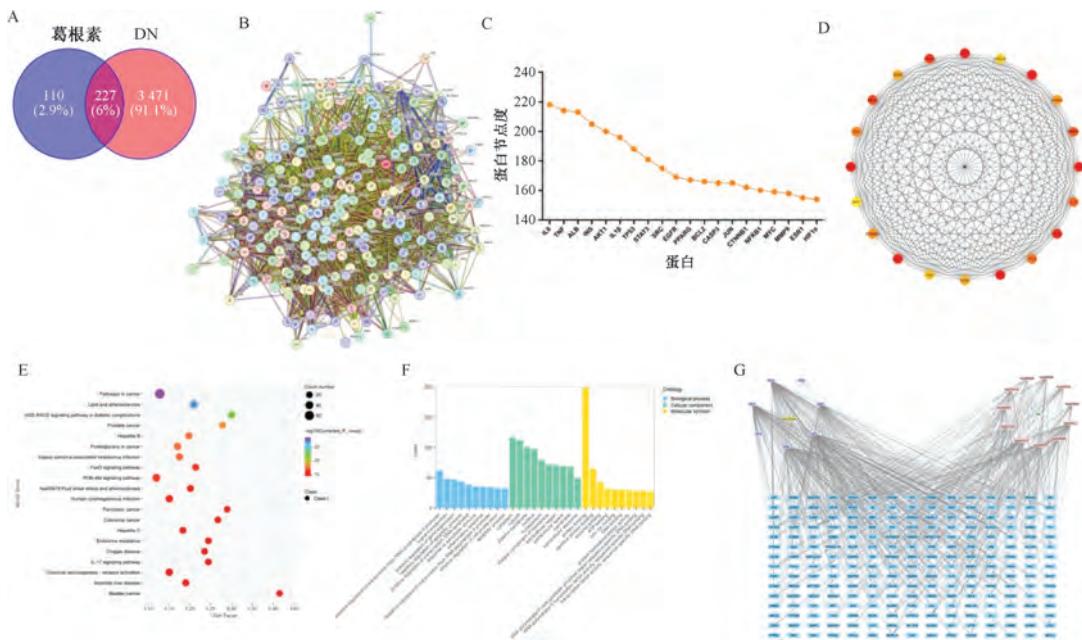
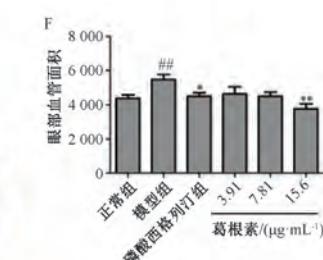
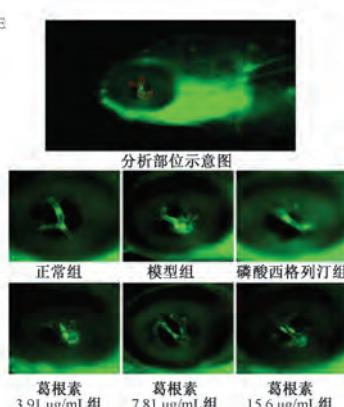
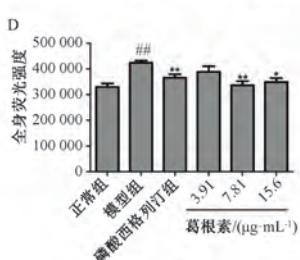
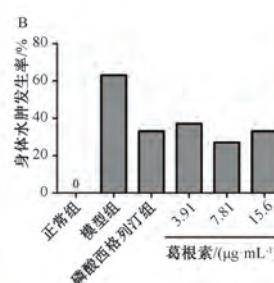
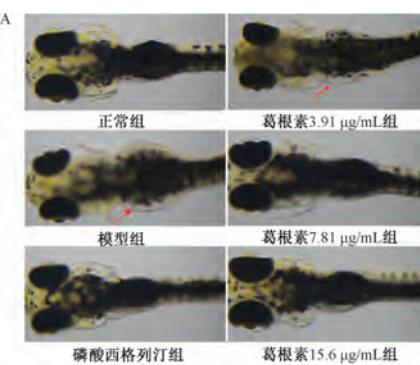


图1 葛根素治疗DN网络药理学结果

表3 葛根素改善糖尿病肾脏损伤质量浓度筛选结果($n=30$)

| 组别 | 质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | 死亡数/ 尾 | 死亡率/ % | 表型 |
|------|---|-----------|-----------|------------|
| 正常组 | — | 0 | 0 | 未见明显异常 |
| 模型组 | — | 0 | 0 | 未见明显异常 |
| 葛根素组 | 15.6 | 0 | 0 | 与模型组状态相似 |
| 葛根素组 | 31.2 | 0 | 0 | 较模型组状态严重 |
| 葛根素组 | 62.5 | 0 | 0 | 较模型组状态严重 |
| 葛根素组 | 125 | 3 | 10 | 剩余较模型组状态严重 |
| 葛根素组 | 250 | 10 | 33 | — |

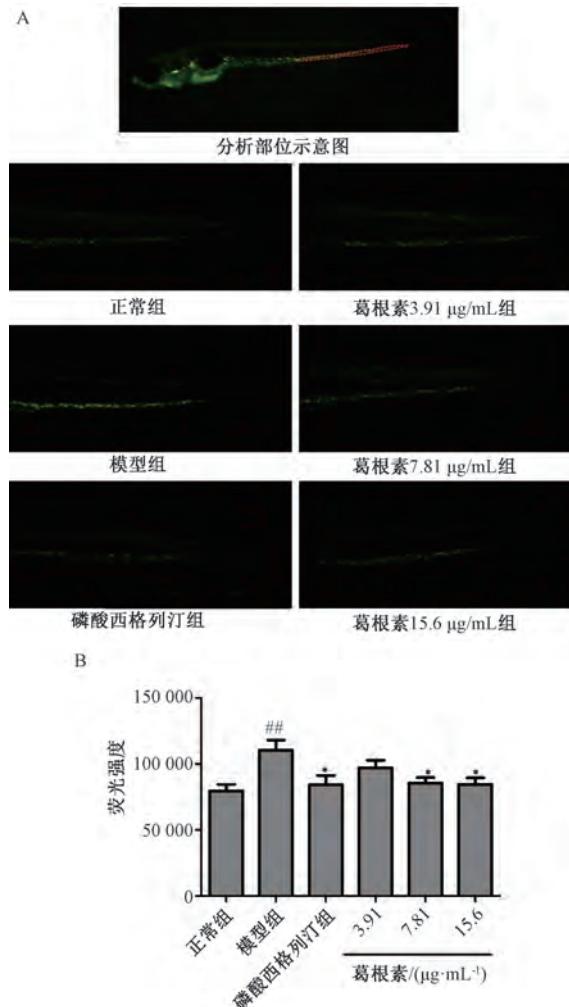


注: 红色箭头指向身体水肿, 红色虚线框为分析区域。与正常组比较, $^{**}P<0.01$; 与模型组比较, $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

图2 各组DN斑马鱼表型 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

与模型组比较,葛根素 $15.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 组和磷酸西格列汀组斑马鱼眼部血管面积减小($P<0.05$),见图2E~2F。

3.2.3 葛根素对斑马鱼炎症反应情况的影响 与正常组比较,模型组斑马鱼巨噬细胞、中性粒细胞荧光强度升高($P<0.01$);与模型组比较,葛根素 7.81 、 $15.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 组和磷酸西格列汀组斑马鱼巨噬细胞、中性粒细胞荧光强度降低($P<0.05$),见图3。

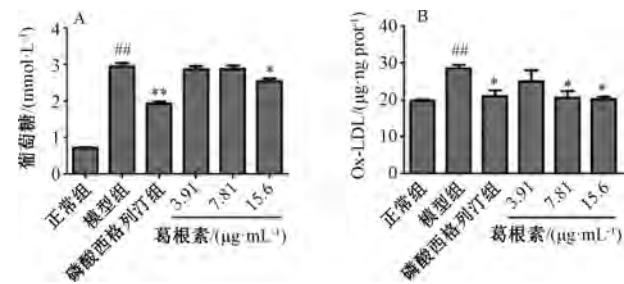


注:红色虚线框为分析区域。与正常组比较, $##P<0.01$;与模型组比较, $^*P<0.05$ 。

图3 各组斑马鱼巨噬细胞、中性粒细胞荧光强度
($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

3.2.4 葛根素对DN斑马鱼生化指标的影响 与正常组比较,模型组斑马鱼葡萄糖、ox-LDL水平升高($P<0.01$);与模型组比较,葛根素 $15.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 组和磷酸西格列汀组斑马鱼葡萄糖、ox-LDL水平降低($P<0.05$, $P<0.01$),见图4。

3.2.5 转录组测序结果 与正常组比较,模型组



注:与正常组比较, $##P<0.01$;与模型组比较, $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

图4 各组斑马鱼葡萄糖、ox-LDL水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

上调基因639个,下调基因294个;与模型组比较,葛根素 $15.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 组上调基因111个,下调基因130个。通过GO注释分析发现差异基因主要涉及环鸟苷酸-腺苷酸合成酶活性的分子功能,见图5。KEGG注释分析发现差异基因在环腺苷酸、胰高血糖素信号通路较显著,见表4。与模型组比较,葛根素组处理后AGE-RAGE信号通路呈现显著富集,见图6。

表4 KEGG富集分析中葛根素显著富集的信号通路关联基因

| 基因 | log ₂ (模型组/ 正常组) | P值 (模型组/ 正常组) | log ₂ (葛根素 15.6 $\mu\text{g/mL}$ 组/模型组) | P值(葛根素 15.6 $\mu\text{g/mL}$ 组/模型组) |
|---------|-----------------------------------|---------------------|--|---|
| camk2g1 | 20.72 | <0.05 | -21.61 | <0.05 |
| phka1a | 6.94 | <0.05 | -7.06 | <0.05 |
| crebbpb | 22.39 | <0.05 | -23.23 | <0.05 |
| cga | 6.50 | <0.05 | -6.62 | <0.05 |
| pde3a | -22.91 | <0.05 | 21.38 | <0.05 |
| crebbpb | 22.39 | <0.05 | -23.23 | <0.05 |
| ppardb | -8.60 | <0.05 | 8.48 | <0.05 |

3.2.6 葛根素对DN斑马鱼 $egr1$ 、 $phka1a$ 、 $camk2g1$ 、 $crebbpb$ 、 $mmp9$ 、 $il-1\beta$ 、 $pde3a$ 、 cga mRNA表达的影响 与正常组比较,模型组 $egr1$ 、 $phka1a$ 、 $camk2g1$ 、 $crebbpb$ 、 $mmp9$ 、 $il-1\beta$ mRNA表达升高($P<0.05$, $P<0.01$), $pde3a$ mRNA表达降低($P<0.01$);与模型组比较,葛根素 $15.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 组 $egr1$ 、 $phka1a$ 、 $camk2g1$ 、 $crebbpb$ 、 $mmp9$ 、 $il-1\beta$ mRNA表达降低($P<0.05$, $P<0.01$), $pde3a$ 、 cga mRNA表达升高($P<0.05$, $P<0.01$),见图7。

4 讨论

在DN治疗中,各类西药呈现出不同的优势,如SGLT2抑制剂、GLP-1受体激动剂、新型醛固酮受体拮抗剂等^[9-11],但其不良反应成为肝肾严重受损者的治疗瓶颈。中药通过补气利水、活血化瘀、调节免疫等多途径发挥疗效^[12-13],整体调理优势明显,与西药联用可增效减毒。

葛根作为药食同源药材,其现代应用还有待进

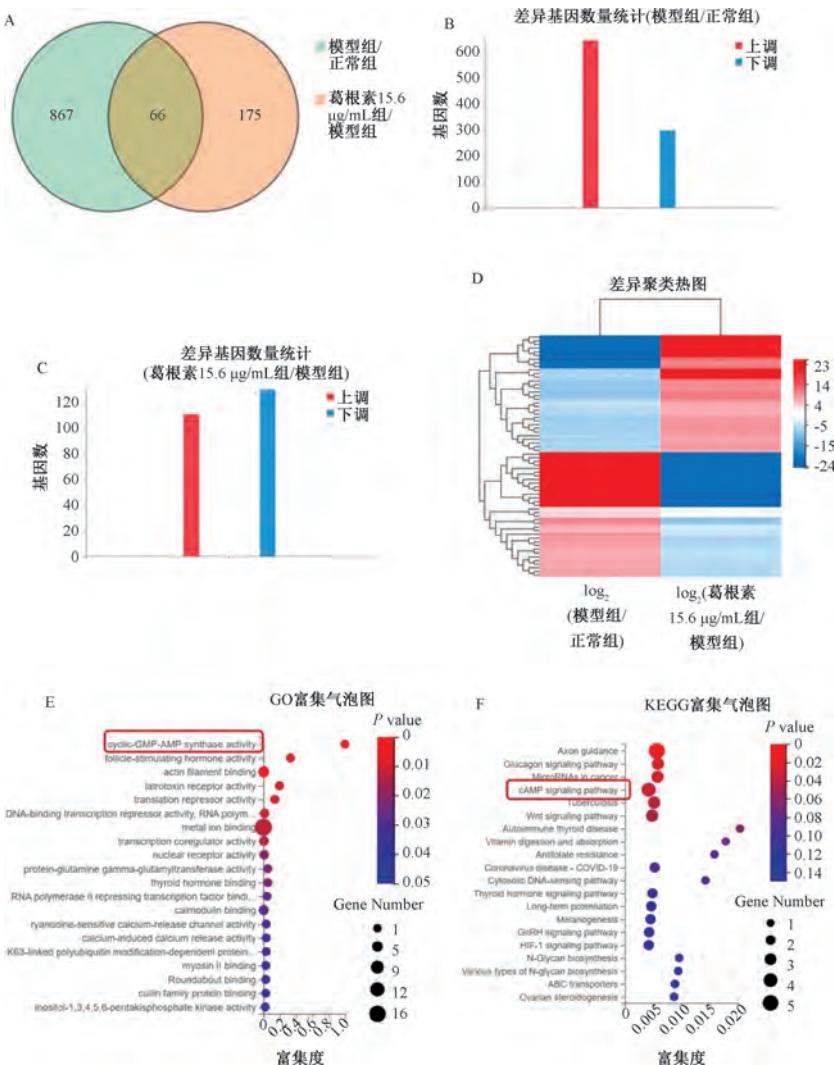


图 5 转录组测序结果

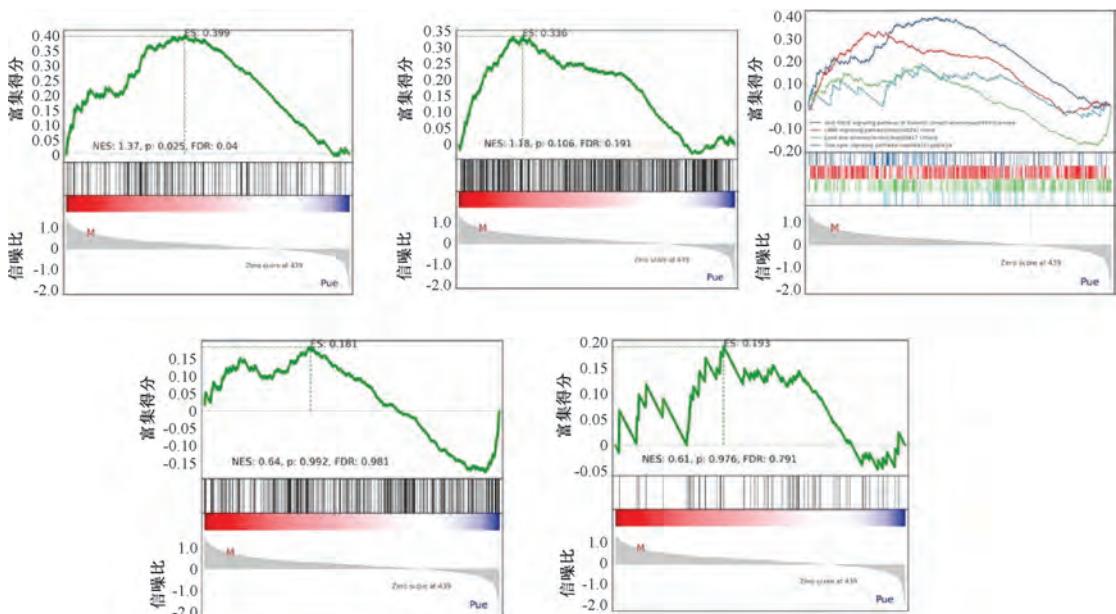
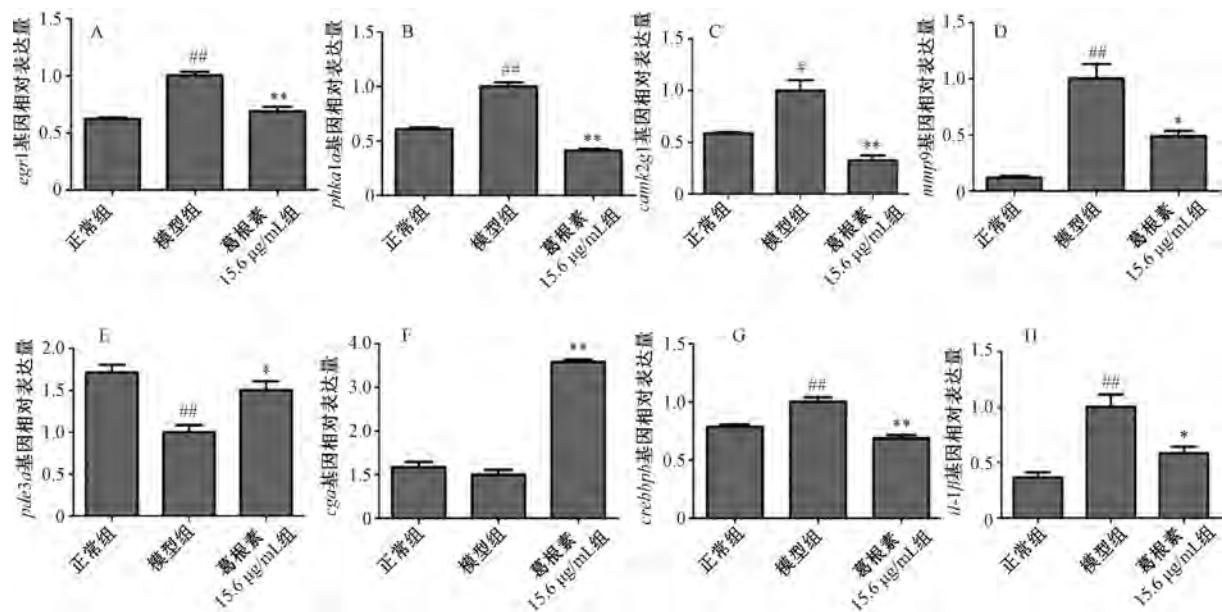


图 6 模型组和葛根素 15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组之间的差异信号通路基因集富集分析图



注: 与正常组比较, $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$; 与模型组比较, $^{\#}P<0.05$, $^{##}P<0.01$ 。

图7 各组斑马鱼 *egr1* (A)、*phka1a* (B)、*camk2g1* (C)、*crebbpb* (D)、*mmp9* (E)、*il-1 β* (F)、*pde3a* (G)、*cga* (H) mRNA 表达比较

一步开发^[14]，虽然它具有抗炎、抗氧化^[15]、调节微生物稳态^[16]、抗糖尿病^[17]等作用，但其改善 DN 的活性成分及具体机制尚不明确^[18]。葛根素作为葛根主要成分，可通过维持 eNOS 表达、减少 RNS 生成来改善糖尿病肾损伤^[19-21]。本研究采用斑马鱼模型，发现葛根素能浓度依赖性地减轻水肿、促进肾小球滤过、缩小眼部血管面积并降低血糖^[22]，证明其对糖尿病肾损伤的保护作用。

通过网络药理学与转录组测序分析发现，葛根素主要通过 RAGE 信号通路发挥作用，与前期研究结果一致^[23-24]。通过转录组筛选出相关通路上的关联因子进行机制研究，再通过 RT-qPCR 法检测葛根素作用斑马鱼糖尿病肾脏损伤模型中相关 mRNA 表达，发现它可降低 *egr1*、*phka1a*、*camk2g1*、*crebbpb*、*mmp9*、*il-1 β* mRNA 表达，升高 *pde3a* mRNA 表达。

RAGE 信号通路在糖尿病肾病中异常激活，AGEs 一方面可直接破坏肾组织和细胞^[25]，另一方面可特异性结合 RAGE，激活下游信号通路，包括 MAPK/ERK、PI3K/Akt 等激酶，进而促进 NF- κ B 磷酸化与核转位，驱动促炎因子（如 IL-1 β ）、促纤维化基因（如 MMP9）表达，引起炎症、氧化应激、凋亡等而导致肾损伤^[26-27]。EGR1 作为 NF- κ B 下游靶基因，能放大炎症反应并促进 IL-1 β 、MMP9 的转录^[28]。葛根素通过抑制 RAGE 下游的 NF- κ B 磷酸化来阻断这一信号轴，减少 IL-1 β 、

MMP9 释放，从而减轻肾脏炎症和肾小球基底膜降解^[29]。因此，该通路参与的炎症反应与 DN 发展密切相关。

本研究证实，葛根素可降低斑马鱼巨噬细胞、中性粒细胞荧光强度，与提取自葛根中的芒果苷通过 NLRP3 炎症复合体及其下游信号分子的失活来介导抗炎作用相呼应^[30]；ox-LDL 可通过改变线粒体膜电位，引起 Cyt C 释放，激活呼吸链复合体 II、eNOS 的解偶联和 NADPH 的氧化来产生 ROS、RNS^[31]，加重氧化应激反应，从而介导肾组织细胞凋亡，而葛根素可降低斑马鱼体内 ox-LDL 的水平，从而延缓糖尿病患者肾损伤。慢性炎症已被证明是 DN 发病的关键因素，而葛根素通过介导炎症反应来缓解糖尿病斑马鱼肾损伤，降低炎症细胞水平，从而发挥保护肾脏的作用。

综上所述，本研究创新性地采用斑马鱼作为评价中药对糖尿病肾脏损伤模型保护作用的动物模型，开展体内实验，表明葛根素能通过抑制炎症反应来改善 DN。

参考文献:

- [1] Dabla P K. Renal function in diabetic nephropathy [J]. *World J Diabetes*, 2010, 1(2): 48-12.
- [2] Selby N M, Taal M W. An updated overview of diabetic nephropathy: Diagnosis, prognosis, treatment goals and latest guidelines [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2020, 22 Suppl 1: 3-15.

- [3] Yamazaki T, Mimura I, Tanaka T, *et al*. Treatment of diabetic kidney disease: Current and future[J]. *Diabetes Metab J*, 2021, 45(1): 11-26.
- [4] Luo F, Gu J, Chen L, *et al*. Systems pharmacology strategies for anticancer drug discovery based on natural products[J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(7): 1912-1917.
- [5] Lertpatipanpong P, Janpajit S, Park E Y, *et al*. Potential anti-diabetic activity of *Pueraria lobata* flower (*Flos Puerariae*) extracts[J]. *Molecules*, 2020, 25(17): 3970.
- [6] Deng H F, Wang X L, Sun H, *et al*. Puerarin inhibits expression of tissue factor induced by oxidative low-density lipoprotein through activating the PI3K/Akt/eNOS pathway and inhibiting activation of ERK1/2 and NF- κ B[J]. *Life Sci*, 2017, 191: 115-121.
- [7] Xu X H, Chen B, Huang Q C, *et al*. The effects of puerarin on autophagy through regulating of the PERK/eIF2 α /ATF4 signaling pathway influences renal function in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13: 2583-2592.
- [8] Xu X H, Zheng N, Chen Z N, *et al*. Puerarin, isolated from *Pueraria lobata* (Willd), protects against diabetic nephropathy by attenuating oxidative stress[J]. *Gene*, 2016, 591: 411-416.
- [9] Rayego-Mateos S, Rodrigues-Diez R R, Fernandez-Fernandez B, *et al*. Targeting inflammation to treat diabetic kidney disease: the road to 2030[J]. *Kidney Int*, 2023, 103(2): 282-296.
- [10] Neuen B L, Heerspink H J L, Vart P, *et al*. Estimated lifetime cardiovascular, kidney, and mortality benefits of combination treatment with SGLT2 inhibitors, GLP-1 receptor agonists, and nonsteroidal MRA compared with conventional care in patients with type 2 diabetes and albuminuria[J]. *Circulation*, 2024, 149(6): 450-462.
- [11] 中国微循环学会糖尿病与微循环专业委员会. 糖尿病微循环障碍临床用药专家共识 (2021年版) [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2021, 13(4): 49-57.
- [12] 郭献炳, 聂远, 许藏藏, 等. 基于 PINK1/MFN2/Parkin 通路探讨金雀根和黄芪配伍对糖尿病肾病大鼠的影响[J]. 中成药, 2024, 46(11): 3620-3628.
- [13] 郭帅, 白璐, 潘利敏, 等. 补阳还五汤合参芪地黄汤化裁对糖尿病肾病小鼠肾小管间质纤维化的作用及机制研究[J]. 中草药, 2022, 53(2): 470-477.
- [14] 郑彩云, 戴亨纷, 陈莉娜. 葛根的药食功效和现代应用探析[J]. 中国现代中药, 2024, 26(10): 1815-1822.
- [15] Yen P T, Huang S E, Hsu J H, *et al*. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of puerarin in postmenopausal cardioprotection: roles of Akt and heme oxygenase-1[J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(1): 149-168.
- [16] Li K, Jiang Y P, Wang N N, *et al*. Traditional Chinese medicine in osteoporosis intervention and the related regulatory mechanism of gut microbiome[J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(8): 1957-1981.
- [17] Luo D, Dong X K, Huang J, *et al*. *Pueraria lobata* root polysaccharide alleviates glucose and lipid metabolic dysfunction in diabetic db/db mice[J]. *Pharm Biol*, 2021, 59 (1): 382-390.
- [18] Yang L H, Chen J, Lu H Y, *et al*. *Pueraria lobata* for diabetes mellitus: past, present and future[J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(7): 1419-1444.
- [19] Yang H B, Song J Y, Xu C, *et al*. Interventional effects of *Pueraria* oral liquid on T2DM rats and metabolomics analysis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175: 116780.
- [20] Guo B Q, Xu J B, Xiao M, *et al*. Puerarin reduces ischemia/reperfusion-induced myocardial injury in diabetic rats via upregulation of vascular endothelial growth factor A/angiotensin-1 and suppression of apoptosis[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 7421-7427.
- [21] 邓华菲, 李坚, 周琴, 等. PI3K/Akt/eNOS 信号通路在葛根素抑制 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞组织因子表达中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(7): 1214-1218.
- [22] Kato Y, Tonomura Y, Hanafusa H, *et al*. Adult zebrafish model for screening drug-induced kidney injury[J]. *Toxicol Sci*, 2020, 174: 241-253.
- [23] Yuan G Z, Shi S, Jia Q L, *et al*. Use of network pharmacology to explore the mechanism of gegen (*Puerariae lobatae Radix*) in the treatment of type 2 diabetes mellitus associated with hyperlipidemia[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6633402.
- [24] 于官正, 李鸿, 涂星, 等. 基于网络药理学和动物实验探讨黄芪葛根汤治疗糖尿病肾病的作用[J]. 中成药, 2023, 45(9): 3097-3103.
- [25] Wang X, Li Q, Han X, *et al*. Electroacupuncture alleviates diabetic peripheral neuropathy by regulating glycolipid-related GLO/AGES/RAGE axis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 655591.
- [26] 茅彩萍, 顾振纶. 葛根素对糖尿病大鼠主动脉糖基化终产物的形成及其受体表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(4): 393-397.
- [27] Wang Z W, Zhang J Q, Chen L, *et al*. Glycine suppresses AGE/RAGE signaling pathway and subsequent oxidative stress by restoring Glo1 function in the aorta of diabetic rats and in HUVECs[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4628962.
- [28] Sun S R, Ning X X, Zhai Y, *et al*. Egr-1 mediates chronic hypoxia-induced renal interstitial fibrosis via the PKC/ERK pathway[J]. *Am J Nephrol*, 2014, 39(5): 436-448.
- [29] Zheng G M, Yu C, Yang Z. Puerarin suppresses production of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-induced N9 microglial cells through regulating MAPK phosphorylation, O-GlcNAcylation and NF- κ B translocation[J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(5): 1610-1608.
- [30] Bulugonda R K, Kumar K A, Gangappa D, *et al*. Mangiferin from *Pueraria tuberosa* reduces inflammation via inactivation of NLRP3 inflammasome[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42683.
- [31] Islam J, Lee H J, Yang S H, *et al*. Expansion of myeloid-derived suppressor cells correlates with renal progression in type 2 diabetic nephropathy[J]. *Immune Netw*, 2020, 20(2): e18.